

اثرات مصرف ماست پروبیوتیک بر نفوذپذیری روده در بیماری التهابی روده: یک کار آزمایی بالینی تصادفی دوسوکور

مهدی شادنوش^۱ (M.D-Ph.D)، مریم نظری^۲ (Ph.D)، حسین حاجیان فر^۳ (Ph.D)، زینب فغفوری^{۲*} (Ph.D)

۱- گروه تغذیه بالینی- رژیم درمانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات سلامت غذایی (نمک)، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۲۸

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۰۲۳-۳۴۵۴۴۹۳۸ zfaghfoori@gmail.com

چکیده

هدف: در پاتوفیزیولوژی بیماری التهابی روده اختلالاتی در سیستم نفوذپذیری روده گزارش شده که ممکن است با اصلاح ترکیب میکروفلور روده توسط درمان‌های مکمل قابل جبران باشد. این مطالعه به منظور بررسی اثر ماست حاوی پروبیوتیک بر روی میزان نفوذپذیری روده در بیماران مبتلا به التهاب روده طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: در این کار آزمایی بالینی تصادفی دوسوکور، ۸۶ بیمار در گروه دریافت‌کننده ماست پروبیوتیک (بیمار مداخله)، ۹۰ بیمار در گروه ماست ساده (بیمار شاهد) و ۸۴ نفر شاهد سالم دریافت‌کننده ماست پروبیوتیک به مدت ۸ هفته روزانه ۲۵۰ گرم ماست تجاری حاوی پروبیوتیک یا ماست ساده دریافت کردند و در پایان هفته هشتم جهت بررسی قابلیت نفوذپذیری روده از تست (Lactulose/Mannitol Ratio, LMR) استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین سن افراد شرکت‌کننده در مطالعه ۳۷/۷ سال و میانگین نمایه توده بدنی در کل افراد مورد بررسی ۲۴/۱۷±۲/۶۵kg/m بود. در ابتدای مطالعه LMR گروه مداخله و شاهد بیمار اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند ($P=۰/۰۸$) اما در پایان دوره این نسبت در گروه مداخله در مقایسه با گروه بیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد ($P=۰/۰۲۳$). این نسبت هم در ابتدا و هم در انتهای مطالعه در گروه شاهد سالم در مقایسه با گروه مداخله به طور معنی‌داری پایین‌تر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد مصرف پروبیوتیک‌ها از طریق رژیم غذایی مانند استفاده از آن در داخل فرآورده‌های لبنی مانند ماست می‌تواند روش مناسبی جهت بهبود آسیب‌های گوارشی از جمله اصلاح سطح نفوذپذیری روده باشد و از آسیب‌های مخاطی پیشگیری کرده یا آن‌ها را ترمیم کند.

واژه‌های کلیدی: بیماری التهابی روده، نفوذپذیری، روده، پروبیوتیک‌ها، ماست

مقدمه

دفاعی علیه میکروکروب‌های لومن و آنتی‌ژن‌ها پدید آورده و محدودکننده فعالیت نامناسب پاسخ‌های ایمنی می‌باشد. این ویژگی در شرایط خاص از جمله در پانکراتیت حاد، نارسایی اندام‌های متعدد، جراحی بزرگ و ترومای شدید تغییر یافته و با اجازه عبور فرآورده‌های باکتریایی منجر به ایجاد پاسخ‌های ایمنی گسترده و تولید انواع سیتوکین‌های التهابی در میزبان می‌شود که می‌تواند سپسیس و حتی مرگ در بیماران مبتلا به شرایط بحرانی را به دنبال داشته باشد [۳-۵].

مطالعات نشان داده‌اند در بیماران مبتلا به التهاب روده (IBD) میزان نفوذپذیری روده افزایش یافته که می‌تواند یکی از عوامل مهم در پاتوژنز آن به ویژه در بیماری کرون (CD) و افزایش عود بیماری تا ۱۸٪ باشد. بنابراین به نظر

روده به عنوان ارگان اصلی مسئول هضم و جذب مواد غذایی، با حضور باکتری‌های مفید خود در حفظ هموستاز عمومی بدن و نیز تغذیه، متابولیسم انرژی و تکامل سیستم ایمنی میزبان جایگاه ویژه‌ای ایفا می‌کند به طوری که تغییرات آن علاوه بر بیماری‌های دستگاه گوارش با پاتوژنز چاقی و سندرم متابولیک نیز در ارتباط نزدیک می‌باشد. در این راستا "سد مخاطی روده" نقش محوری این ارگان حیاتی را در تعامل با جمعیت میکروارگانیسم‌های آن به خوبی منعکس می‌کند [۱،۲]. "نفوذپذیری" به عنوان یکی از ویژگی‌های عملکردی سلول‌های اپتلیال، انتشار مولکول‌ها از این سد مخاطی را تسهیل می‌کند. به طوری که اپتلیال سالم روده با اتصالات محکم خود یک سد

تجویز شده و اثری بر فلور میکروبی ندارند و با توجه به اثرات پروبیوتیک‌ها روی اپیتلیوم و تعدیل پاسخ ایمنی [۱۶-۱۴]، این مطالعه با هدف بررسی اثر ماست حاوی پروبیوتیک بر روی میزان نفوذپذیری روده در بیماران مبتلا به التهاب روده طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها. این مطالعه به صورت یک کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور طراحی شد و با کد IRCT201105106431N1 در www.irct.ir ثبت شده و مجوز لازم از نود و ششمین جلسه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی طی نامه شماره ۸۹/۰۱/۱۰۰/۷۳۸۴/۵۰۹۱ اخذ گردید. انتخاب نمونه‌های بیمار از روی پرونده‌های پزشکی بیماران مبتلا به بیماری التهاب روده (کرون و کولیت زخمی)، مراجعه‌کننده به بیمارستان‌ها و مراکز تحت پوشش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی صورت گرفت. تعداد نمونه‌ها از فرمول ذیل محاسبه و در هر گروه ۸۴ نفر قرار گرفت و با توجه به خروج نمونه‌ها ۲۰٪ اضافی در نظر گرفته شد. با فرض توان آزمون ۹۰٪ ($\beta=0/1$) و خطای نوع اول ۵٪ ($\alpha=0/05$) و با در نظر گرفتن اندازه اثر نسبی به میزان ۵۰٪ انحراف معیار مشترک (به دلیل در دسترس نبودن اطلاعات مورد نیاز)، تعداد نمونه ۸۴ نفر برای هر گروه تعیین شد:

$$Z_{1-\alpha/2} = 1/96 \quad Z_{1-\beta} = 1/28 \quad \Delta = 0/5$$

δ

$$2(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2$$

$$n = \frac{2 \left(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta} \right)^2}{(\Delta/\delta)^2} = 84 \text{ نفر برای هر گروه}$$

معیارهای ورود به مطالعه شامل (۱) ابتلا به بیماری کولیت زخمی فعال یا بیماری کرون فعال که در دوره Remission (تسکین) بیماری قرار داشتند (به غیر از گروه شاهد سالم)، (۲) عدم مصرف مکمل‌های پروبیوتیک و پره‌بیوتیک حداقل ۳ ماه قبل از مطالعه، (۳) عدم مصرف مکمل ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی و مکمل امگا-۳ حداقل ۳ ماه قبل از مطالعه، (۴) عدم مصرف داروهای آنتی‌بیوتیک در طول ۳ ماه گذشته (۵) عدم ابتلا به سایر بیماری‌های التهابی مانند آرتریت روماتوئید و عدم ابتلا به هر نوع بیماری عفونی و سایر بیماری‌های سیستم گوارشی، (۶) داشتن BMI بین ۱۸/۵ تا ۳۰ کیلوگرم بر مترمربع، (۷) عدم بارداری یا شیردهی در زنان شرکت‌کننده در مطالعه و (۸) داشتن تمایل به همکاری و ارائه رضایت‌نامه کتبی بوده و معیارهای خروج نیز به شکل (۱) عدم تمایل بیمار برای ادامه مطالعه، (۲)

می‌رسد اصلاح عواملی مانند ترکیب میکروبی و میزان نفوذپذیری روده، می‌تواند رویکرد مناسبی در جهت درمان IBD باشد [۶]. افزایش نفوذپذیری روده به دنبال آسیب سد مخاطی در بیماران مبتلا به کولیت زخمی نیز مشخص شده است. در کولیت زخمی خفیف، سوراخ‌های موضعی ناشی از آپوپتوز اپیتلیال کولونی ایجاد می‌شود اما در موارد متوسط تا شدید نه تنها وسعت این جراحات‌ها گسترش می‌یابند بلکه همراه با جراحات‌های خونریزی‌کننده بسیار نفوذپذیر نیز می‌باشند [۷]. درمان‌های رایج CD شامل کنترل التهاب توسط داروهای ضدالتهاب، مهارکننده ایمنی و آنتی‌سیتوکین‌هایی مانند آنتی TNF می‌باشد. با توجه به ماهیت مولتی فاکتوریال بودن این بیماری و نیز عوارض جانبی دارودرمانی متداول، اتخاذ یک استراتژی کمک درمانی در این بیماران و اصلاح نواقص مولکولی در التهاب‌های حاد و مزمن ضروری به نظر می‌رسد [۳].

پروبیوتیک‌ها به عنوان مکمل غذایی زنده یا میکروارگانیسم‌های غیرپاتوژن جهت تأثیرگذاری مفید خود، با معیارهایی چون ایمن بودن، پایداری نسبت به اسید و صفرا، توانایی تولید ترکیبات ضد میکروبی، آنتاگونیست باکتری‌های پاتوژن و توانایی اصلاح پاسخ‌های ایمنی ارزیابی و تایید می‌شوند و منطق استفاده از آن‌ها در بیماری التهاب روده، حمایت تحقیقات علمی از درگیر بودن فلور میکروبی روده و اثر آن روی پاسخ‌های ایمنی میزبان می‌باشد [۸]. استفاده از پروبیوتیک‌هایی چون لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در مطالعات حیوانی با بهبود عملکرد سد مخاطی و کاهش تولید سیتوکین‌های التهابی مانند TNF- α ، IL-12 و INF- γ و کاهش بروز سرطان کولون همراه بوده است. در مطالعات انسانی مختلف نیز اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر عملکرد روده بررسی شده است. به عنوان مثال مصرف لاکتوباسیلوس رامنوس گونه GG در کودکان مبتلا به CD با افزایش سطح IGA و بهبود امتیاز بالینی و نفوذپذیری روده همراه بوده است [۹-۱۲].

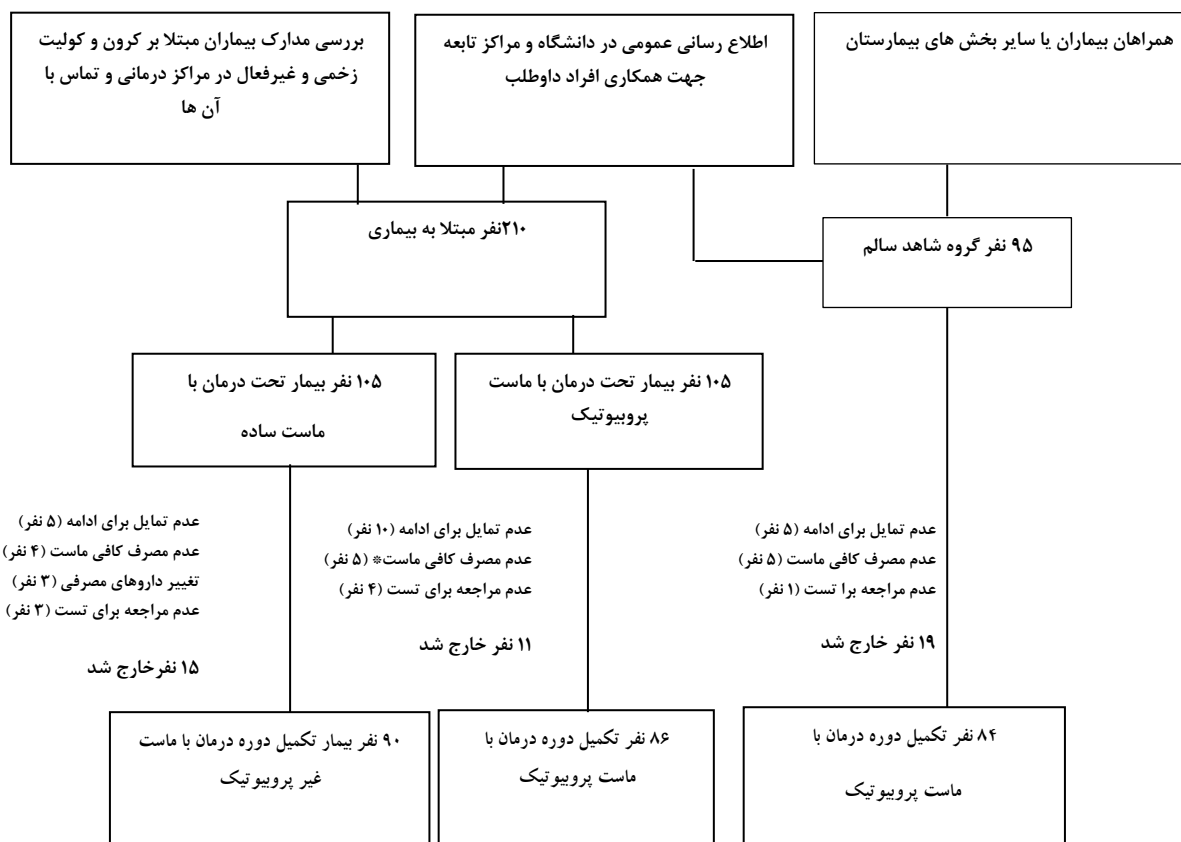
در تحقیق دیگری که اثر مکمل مخمر *Saccharomyces boulardii* بر قابلیت نفوذپذیری روده در CD بررسی شد مشخص گردید افزودن پروبیوتیک به درمان پایه بیماران، یک پارچگی سد مخاطی روده را بهبود داده و موجب کاهش نفوذپذیری روده می‌شود [۱۳]. علی‌رغم اثبات اثرات مفید مصرف باکتری‌های خاص بر بهبود عملکرد روده (حداقل در مطالعات حیوانی با استفاده از پروبیوتیک‌ها)، کارآزمایی بالینی در این رابطه انگشت‌شمار است. لذا از آنجایی که درمان‌های کلاسیک موجود برای IBD عمدتاً با هدف مهار پاسخ‌های ایمنی

گروه دیگر به همان میزان ماست ساده به مدت ۸ هفته داده شد. ماست‌های مصرفی بیماران هر ده روز یک بار و در کل طول مطالعه ۶ بار به محل زندگی بیماران تحویل داده می‌شد.

تست نفوذپذیری. در پایان هفته هشتم جهت بررسی قابلیت نفوذپذیری روده از تست نسبت لاکتولوز به مانیتول (Ratio) (Lactulose/Mannitol) (LMR) استفاده شد. جهت انجام تست محلولی حاوی ۱۰۰ گرم سوکروز، ۵ گرم لاکتولوز و ۲ گرم مانیتول در ۵۰۰ ml آب شیر به بیمار داده شد و از فرد شرکت‌کننده خواسته شد شب، بعد از یک ساعت ناشتایی و تخلیه کامل مثانه این محلول را نوشیده و سپس تمام ادرار شبانه خود را در ظرف پلاستیکی حاوی ۵ ml محلول تیمول به عنوان نگه‌دارنده که قبلاً به او تحویل داده شده بود جمع‌آوری نموده و صبح آن را به محل انجام مطالعه تحویل دهد. پس از اندازه‌گیری حجم نمونه‌های ادرار، آن‌ها به نمونه‌های ۱۰ ml تقسیم و در دمای 20°C - فریز شدند. در نهایت غلظت ادراری سوکروز، مانیتول و لاکتولوز با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (high-performance liquid chromatography (HPLC)) اندازه‌گیری شد.

نیاز به تغییر در مقدار یا نوع داروهای مصرفی در طول مطالعه و ۳) عدم مصرف ماست بیش‌تر از ۳ روز در هر ۱۰ روز تعریف شدند. با توجه به معیارهای ورود، ۲۱۰ فرد مبتلا به بیماری و ۹۵ فرد سالم (از میان همراهان بیماران یا سایر بخش‌های بیمارستان) به عنوان گروه شاهد جهت شرکت در مطالعه اعلام آمادگی کردند که در نهایت در گروه بیمار دریافت‌کننده پروبیوتیک (بیمار مداخله) ۸۶ نفر و در گروه بیمار دریافت‌کننده ماست ساده (بیمار شاهد) ۹۰ نفر و در گروه شاهد سالم که ماست پروبیوتیک دریافت کردند ۸۴ نفر مطالعه را به پایان رساندند. روند انتخاب بیماران و تقسیم‌بندی آن‌ها طی مطالعه در شکل ۱ ارائه شده است.

مداخله. ماست‌های ساده و پروبیوتیک توسط شرکت صنایع شیر پگاه در ظرف‌های ۲۵۰ میلی‌گرمی و ۱/۵٪ چربی تهیه شدند و دارای مدت زمان نگهداری ۲۰ روزه بودند. به گروه درمان روزانه ۲۵۰ گرم ماست تجاری حاوی پروبیوتیک‌های *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium BB-12* La-5 حاوی حداقل 106 colony-forming units/ml و به



شکل ۱. دیاگرام انتخاب بیماران و تقسیم‌بندی آنها طی مطالعه

سن تشخیص در بیماران تقریباً ۱۶ سال و میانگین مدت زمان ابتلا حدود ۷ سال (۳ تا ۲۰ سال) بود. گروه مداخله و گروه‌های شاهد از نظر مشخصات عمومی اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند. مطابق جدول ۳، نسبت لاکتولوز به مانیتول در ابتدای مطالعه در گروه مداخله ۰/۰۲۲، در گروه شاهد بیمار ۰/۰۲۰ بود که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/088$) در پایان دوره مطالعه این نسبت در گروه مداخله به ۰/۰۱ و در گروه شاهد بیمار به ۰/۰۲۱ رسید که میزان انتهایی در بین دو گروه بیمار مداخله و شاهد بیمار اختلاف معنی‌داری داشت ($P=0/02$). این نسبت در ابتدای مطالعه در گروه شاهد سالم ۰/۰۰۳ بود که در مقایسه با گروه مداخله اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P=0/007$) در پایان در گروه شاهد سالم به ۰/۰۰۵ رسید که در مقایسه با گروه مداخله اختلاف به صورت معنی‌دار باقی ماند ($P=0/009$). تغییرات در LMR در داخل گروه بیمار مداخله در مقایسه بین ابتدا و انتهای مطالعه اختلاف معنی‌داری را نشان می‌داد ($P=0/007$), این تغییر در داخل گروه‌های شاهد بیمار و شاهد سالم معنی‌دار نبود ($P>0/05$).

میزان لاکتولوز دفعی در ابتدای مطالعه در دو گروه مداخله و شاهد بیمار اختلاف معنی‌داری نداشت ($P=0/089$), اما در بین دو گروه مداخله و شاهد سالم اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/001$) (جدول ۴). در انتهای مطالعه این میزان در مقایسه بین دو گروه مداخله و شاهد بیمار و همچنین در بین دو گروه مداخله و شاهد سالم اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد به ترتیب ($P<0/001$) و ($P=0/009$). میزان مانیتول دفعی در مقایسه بین گروه‌های مورد مطالعه نه در ابتدا و نه در انتهای مداخله اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد.

دفع کسری (fractional excretion) هر قند به صورت نسبت کل مقدار دفع ادراری آن (غلظت ادراری ضرب در حجم کل ادرار) به دوز خوراکی کل محاسبه شده و سپس برای هر فرد شرکت‌کننده نسبت لاکتولوز به مانیتول به صورت دفع کسری لاکتولوز تقسیم بر دفع کسری مانیتول تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) استفاده شد. ابتدا توزیع نرمال متغیرها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به طبیعی بودن توزیع میانگین متغیرها، برای مقایسه میانگین داده‌های دموگرافیک بین سه گروه مورد مطالعه آزمون One-way ANOVA صورت گرفت. در صورت معنی‌دار بودن اختلاف بین ۳ گروه، برای تعیین دو گروهی که میانگینشان با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت، از آزمون تعقیبی post hoc test tukey استفاده شد. همچنین برای مقایسه متغیرهای کیفی از آزمون کای دو یا Chi-square و جهت مقایسه نسبت لاکتولوز به مانیتول بین گروه‌ها از آزمون کای دو و در داخل گروه‌ها (قبل و بعد مطالعه) از آزمون مک نمار استفاده شد. سطح معنی‌داری نیز Pvalue کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و داده‌های کمی به شکل میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شدند.

نتایج

مشخصات دموگرافیک افراد شرکت‌کننده به تفکیک گروه‌ها در جدول ۱ و ۲ اشاره شده است. میانگین سن افراد شرکت‌کننده در مطالعه ۳۷/۷ سال (۲۶ تا ۵۹ سال) بود و در مجموع ۷۶/۹٪ از شرکت‌کنندگان دارای تحصیلات دانشگاهی بودند. میانگین

جدول ۱. مشخصات عمومی بیماران شرکت‌کننده در مطالعه (برحسب درصد) *آزمون Chi-square

P value*	گروه شاهد سالم (n=۸۴)	گروه شاهد بیمار (n=۹۰)	گروه بیمار مداخله (n=۸۶)	متغیر (%)	
				مرد	زن
۰/۰۶۸	۳۳/۷	۵۵/۶	۶۲/۸	جنس	
	۶۶/۳	۴۴/۴	۳۷/۲		
۰/۰۷۱	۴۱	۳۳/۳	۲۵/۶	سابقه فامیلی	
	۵۹	۶۶/۷	۷۴/۴		
۰/۰۷۹	۵۴/۷	۴۴/۴	۵۰	مصرف سیگار	
	۱۱/۶	۴۴/۴	۳۷/۲	غیرسیگاری	
	۳۳/۷	۱۱/۲	۱۲/۸	سابقه مصرف سیگار	
۰/۰۶۹	۳۳/۷	۲۲/۲	۱۲/۸	تحصیلات	
	۵۴/۷	۴۴/۴	۶۲/۸	دیپلم و پایین‌تر	
	۱۱/۶	۳۳/۴	۲۴/۴	لیسانس	
۰/۰۷۵	۳۲/۵	۲۲/۲	۱۲/۸	شغل	
	۴۴/۲	۷۷/۸	۸۷/۲	خانواده دار	
	۲۳/۳	۰	۰	کارمند	
				آزاد	

جدول ۲. مشخصات عمومی بیماران شرکت کننده در مطالعه (Mean±SD)

P value*	گروه شاهد سالم (mean±SD) (n=۸۴)	گروه شاهد بیمار (mean±SD) (n=۹۰)	گروه بیمار مداخله (mean±SD) (n=۸۶)	متغیر
۰/۰۸۲	۳۸/۶۷±۰/۳۲	۳۷/۶۷±۸/۰۲	۳۶/۶۳±۹/۰۷	سن (سال)
		۲۵/۰۰±۸/۱۳	۲۶/۰۰±۷/۶۳	سن تشخیص بیماری (سال)
		۱۱/۵۶±۵/۱۰	۱۰/۶۳±۵/۸۱	مدت ابتلا به بیماری (سال)
۰/۰۷۳	۱/۷۰±۰/۰۹	۱/۶۹±۰/۰۷	۱/۷۰±۰/۰۷	قد (متر)
۰/۰۶۸	۷۰/۵۴±۹/۷۴	۶۹/۵۵±۱۰/۴۹	۷۰/۳۱±۱۲/۳۸	وزن (کیلوگرم)
۰/۰۷۰	۲۴/۲۰±۲/۷۸	۲۴/۲۵±۲/۷۰	۲۴/۰۶±۲/۸۰	BMI*(kg/m2)

*Body Mass Index
*آزمون One-way ANOVA

جدول ۳. میانه و دامنه تغییرات درصد لاکتولوز و درصد مانیتول دفعی و نسبت لاکتولوز به مانیتول دفعی در گروه بیمار مداخله و گروه شاهد بیمار مورد مطالعه قبل و پس از مداخله

P value**	پایان (median[range])	شروع (median[range])	متغیرها
<۰/۰۰۱	۰/۱۹ (۰/۰۹ - ۰/۶۱)	۰/۳۹ (۰/۱۸ - ۰/۸۹)	گروه بیمار مداخله (۸۶ نفر)
۰/۰۷۸	۰/۳۸ (۰/۱۳ - ۰/۶۵)	۰/۳۷ (۰/۱۴ - ۰/۷۳)	گروه شاهد بیمار (۹۰ نفر)
	۰/۰۰۱	۰/۰۸۹	P value
۰/۰۹۱	۱۷/۶ (۱۱/۶ - ۲۵/۲۰)	۱۷/۷ (۱۲/۱۵ - ۲۵/۲۳)	گروه بیمار مداخله (۸۶ نفر)
۰/۰۸۹	۱۷/۶ (۱۳/۱۰ - ۲۲/۹)	۱۷/۹ (۱۲/۱۰ - ۲۶/۹)	گروه شاهد بیمار (۹۰ نفر)
	۰/۰۸۵	۰/۰۸۷	P value
۰/۰۰۷	۰/۰۱۰ (۰/۰۰۷ - ۰/۰۲۴)	۰/۰۲۲ (۰/۰۱۴ - ۰/۰۳۵)	گروه بیمار مداخله (۸۶ نفر)
۰/۱۲	۰/۰۲۱ (۰/۰۱۱ - ۰/۰۲۹)	۰/۰۲۰ (۰/۰۱۱ - ۰/۰۲۹)	گروه شاهد بیمار (۹۰ نفر)
	۰/۰۲۳	۰/۰۸۸	P value*

*آزمون کای دو

**آزمون مک نمار

جدول ۴. میانه و دامنه تغییرات درصد لاکتولوز و درصد مانیتول دفعی و نسبت لاکتولوز به مانیتول دفعی در گروه بیمار مداخله و گروه شاهد سالم مورد مطالعه قبل و پس از مداخله

P value**	پایان (median[range])	شروع (median[range])	متغیرها
<۰/۰۰۱	۰/۱۹ (۰/۰۹ - ۰/۶۱)	۰/۳۹ (۰/۱۸ - ۰/۸۹)	گروه بیمار مداخله (۸۶ نفر)
۰/۰۷۶	۰/۰۹ (۰/۰۴ - ۰/۲۱)	۰/۰۶ (۰/۰۳ - ۰/۱۹)	گروه شاهد سالم (۸۴ نفر)
	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱	P value
۰/۰۹۱	۱۷/۶ (۱۱/۶ - ۲۵/۲۰)	۱۷/۷ (۱۲/۱۵ - ۲۵/۲۳)	گروه بیمار مداخله (۸۶ نفر)
۰/۰۷۶	۱۸/۰۰ (۱۱/۱۰ - ۲۳/۸۰)	۱۸/۰۵ (۱۲/۰۱ - ۲۵/۰۵)	گروه شاهد سالم (۸۴ نفر)
	۰/۰۸۷	۰/۰۸۹	P value
۰/۰۰۷	۰/۰۱۰ (۰/۰۰۷ - ۰/۰۲۴)	۰/۰۲۲ (۰/۰۱۴ - ۰/۰۳۵)	گروه بیمار مداخله (۸۶ نفر)
۰/۰۸۵	۰/۰۰۵ (۰/۰۰۱ - ۰/۰۰۸)	۰/۰۰۳ (۰/۰۰۲ - ۰/۰۰۷)	گروه شاهد سالم (۸۴ نفر)
	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	P value*

*آزمون کای دو

**آزمون مک نمار

به بیماری التهاب روده در مقایسه با گروه شاهد سالم به طور معنی داری افزایش یافته است. هم چنین دفع لاکتولوز به طور معنی داری در بیماران بالاتر از گروه شاهد سالم است در حالی

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد سطح نفوذپذیری روده بر اساس تست نسبت لاکتولوز به مانیتول در ادرار در بیماران مبتلا

که دفع مانیتول تفاوت معنی داری را بین دو گروه مورد مطالعه نشان نداد.

مطالعه Garcia Vilela و همکارانش بر سطح نفوذپذیری روده در بیماران مبتلا به بیماری کرون که در دوره تسکین بیماری قرار داشتند، نشان داد که سطح نفوذپذیری روده (نسبت لاکتولوز به مانیتول) به طور معنی داری در این بیماران در مقایسه با گروه شاهد سالم بالاتر است [۱۳]. نتایج مشابهی نیز از مطالعه Haas و همکارانش [۱۷] به دست آمد. مطالعه Benjamin و همکارانش در بررسی سطح نفوذپذیری روده در ۱۲۵ بیمار مبتلا به بیماری کرون در مقایسه با شاهد سالم نشان داد که تفاوت معنی داری بین میزان دفع مانیتول در ادرار، بین ۲ گروه وجود ندارد ولی دفع لاکتولوز به طور معنی داری در بیماران بالاتر از گروه شاهد است که نتایج این مطالعه در راستای مطالعه انجام یافته است. هم چنین نسبت لاکتولوز به مانیتول در افراد با بیماری کرون، از گروه شاهد سالم بالاتر است و این تفاوت نیز از نظر آماری معنی دار است [۴]. فرضیه های مختلفی به موضوع پاتوژن بیماری التهاب روده پرداخته که یکی از آنها تغییر در میزان نفوذپذیری روده است [۵، ۱۸] چرا که به نظر می رسد التهاب مخاط همراه با اختلال در عملکرد سد مخاطی علاوه بر دفع مواد محلول کوچک و آب به داخل لومن و ایجاد اسهال، با تسهیل عبور مولکول های درشت تر از این سد طبیعی موجب تحریک ایمنی میزبان می گردد. برداشت مقادیر بالای آنتی ژن ها در چنین شرایطی ممکن است باعث شروع یا تشدید التهاب شود.

پدیده افزایش نفوذپذیری روده که در ۵۰٪ مبتلایان به کرون مشاهده می شود (بر اساس نسبت ادراری لاکتولوز به مانیتول) می تواند هدف درمانی جدیدی در این اختلال باشد که توسط عوامل تغذیه ای متعادل کننده ایمنی و پروبیوتیک ها مورد اصلاح قرار گیرد [۲]. در مطالعه حاضر افزایش نفوذپذیری روده در مبتلایان در مقایسه با گروه شاهد سالم همسو با نتایج مطالعات مشابه گذشته در این زمینه بر روی CD بود [۴، ۱۳]. اما میزان لاکتولوز دفعی در گروه بیمار مداخله دریافت کننده پروبیوتیک به طور معنی دار به نصف تقلیل یافته بود. هم چنین نتایج مطالعه نشان داد با وجود آن که در ابتدای مطالعه LMR گروه مداخله و شاهد بیمار اختلاف آماری معنی داری نداشتند، اما در پایان دوره این نسبت در گروه مداخله که ماست پروبیوتیک مصرف کردند در مقایسه با گروه بیمار شاهد که ماست ساده مصرف کردند، کاهش معنی داری پیدا کرد. هم چنین این نسبت در گروه مداخله بیمار در مقایسه با قبل از مصرف ماست پروبیوتیک نیز کاهش معنی داری نشان داد نتایج مطالعات نیز قابلیت ماست پروبیوتیک را در اصلاح نفوذپذیری روده و هم چنین تنظیم سطح

باکتری های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتری نمونه مدفوع بیماران تأیید می نماید [۲۱-۱۹]. بنابراین می توان نتیجه گرفت کاهش نفوذپذیری روده از یک سو و اصلاح ترکیب فلور میکروبی روده از سوی دیگر قادر است با کاهش دسترسی پاتوژن ها به سیستم ایمنی روده، در تعدیل پاسخ های ایمنی بیمار نیز مؤثر باشد.

زیرلایه مخاطی سیستم گوارشی یک لایه سلولی است که به وسیله اتصالات بین سلولی (tight junction) در کنار هم نگه داشته شده و یک سد با نفوذپذیری انتخابی در برابر محتویات مجرای گوارشی تشکیل می دهد [۱۷، ۱۹]. در ساختمان این سد پاراسلولی [۶، ۲۲، ۲۳] گروهی از پروتئین های فعال قرار گرفته اند که می توانند نفوذپذیری آن را بر اساس ویژگی های محیطی سلول تغییر دهند. سه گروه از پروتئین های کلیدی در TJ شامل ZO-1 occluding و خانواده ای claudin می باشند. پروتئین های ZO-1 پروتئین های بین غشایی occludin را به هم متصل نموده و claudin آن ها را به اکترین های اسکلت سلولی مرتبط می کند [۱۷]. شواهد متعددی وجود دارد که نشان می دهد ساختار این اتصالات محکم در CD دچار آسیب شده و ناپیوستگی در ساختمان سد پدید می آید [۳، ۲۴].

به نظر می رسد افزایش بیان claudin-2 - که تشکیل دهنده منافذ در اتصالات محکم است - یکی از مکانیسم های احتمالی این ناپیوستگی ها باشد. افزایش بیان این پروتئین در نمونه سلولی باعث افزایش هدایت یون سدیم از اتصالات محکم و هم چنین افزایش تعداد منافذ کوچک موجود در اتصالات محکم می شود. افزایش سطح سیتوکین های التهابی مانند TNF- α و IFN- γ که در بافت های ملتهب روده در بیماران مبتلا به التهاب روده رخ می دهد نیز بیان پروتئین claudin-2 در سلول را افزایش می دهد [۲۴]. اما این عامل به تنهایی برای توضیح افزایش نفوذپذیری به لاکتولوز در این بیماران به نظر کافی نمی رسد [۲۲].

اگرچه تاکنون مطالعه ای مستقیماً اثر مصرف ماست پروبیوتیک را بر روی نفوذپذیری روده در مبتلایان به التهاب روده بررسی نکرده، اثر مکمل پروبیوتیک *Saccharomyces boulardii* در این مورد بررسی شده و مصرف آن بهبود معنی دار شاخص LMR در CD را نشان داده است [۱۳].

مکانیسم دقیقی که باکتری های پروبیوتیک از طریق آن عملکرد سد مخاطی را ارتقا می دهند نامشخص است اما به نظر می رسد برخی از این باکتری ها همانند *L.plantarum* 299v بیان ژن MUC و ترشح موکوس را اصلاح می کنند، برخی دیگر از جمله *S.thermophiles* و *L.acidophilus* ترشح آب و کلراید را محدود می کنند [۲۷-۲۵].

امیدوارکننده در درمان IBD است اگر چه مطالعات بیشتر جهت تأیید ایمنی و اثربخشی آن در مطالعات بالینی مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

با سپاس از تمامی بیمارانی که در انجام مطالعه حاضر مشارکت نمودند.

منابع

- [1] Halloran K, Underwood MA. Probiotic mechanisms of action. *Early Hum Dev* 2019; 135: 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2019.05.010> PMID:31174927
- [2] Michielan A, D'Inca R. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediat Inflamm* 2015; 2015: 628157. <https://doi.org/10.1155/2015/628157> PMID:26582965 PMCID:PMC4637104
- [3] Mike G Laukoetter, Porfirio Nava, Asma Nusrat Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 401-407. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.401> PMID:18200662 PMCID:PMC2679128
- [4] Benjamin J, Makharia G, Ahuja V, Kalaivani M, K Joshi Y. Intestinal permeability and its association with the patient and disease characteristics in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1399-1405. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.1399> PMID:18322955 PMCID:PMC2693689
- [5] Hanauer S. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: S3-S9. <https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000195385.19268.68> PMID:16378007
- [6] Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: Friend of foe? *World J Gastroenterol* 2011; 17: 557-566. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i5.557> PMID:21350704 PMCID:PMC3040327
- [7] Head KA, Jurenka JS. Inflammatory bowel disease Part 1: ulcerative colitis--pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Altern Med Rev* 2003; 8: 247-283.
- [8] Meijer BJ, Dielema LA. Probiotics in the treatment of human inflammatory bowel diseases. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: S139-S144. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31822103f7> PMID:21992953
- [9] Schultz M, Veltkamp C, Dieleman LA, Grenther WB, Wyrick PB, Tonkonogy SL, et al. Lactobacillus plantarum 299v in the treatment and prevention of spontaneous colitis in Interleukin-10- deficient mice. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8: 71-80. <https://doi.org/10.1097/00054725-200203000-00001> PMID:11854603
- [10] Youssef L, Francis M, Mladenovic A, Geagea AG, Cehovin K, Saleh H, et al. Probiotics: In Sickness and In Health. *Int J Recent Sci Res* 2018; 9: 192-203.
- [11] McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, Vaughan EE, Fitzsimons N, et al. Double blind, placebo-controlled trial of two probiotic strains in IL-10 knockout mice and mechanistic links with cytokine balance. *Gut* 2003; 52: 975-980. <https://doi.org/10.1136/gut.52.7.975> PMID:12801954 PMCID:PMC1773705
- [12] Malin M, Suomalainen H, Saxelin M, Isolauri E. Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with Lactobacillus GG. *Ann Nutr Metab* 1996; 40: 137-145.

همان‌طور که پیش‌تر نیز ذکر شد باکتری‌های پروبیوتیک ممکن است در حفظ ساختار اسکلت سلولی با اهمیت باشند [۲۵] به عنوان مثال، *L.acidophilus* از بازآرایی F-actin که در سلول‌های اپیتلیال در اثر مواجهه با *E.coli* پاتوزنیک ایجاد شده بود، محافظت کرد [۲۸]. در چند مدل‌های حیوانی نیز مشخص شده پروبیوتیک‌هایی نظیر *L.rhamnosus* GG با افزایش بیان پروتئین‌های TJ's، افزایش استحکام بین سلول‌ها و اصلاح دیسبیوزیس قادر به کاهش نفوذپذیری روده هستند [۱]. هم‌چنین مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که اثرات مفید پروبیوتیک‌ها ممکن است از طریق کاهش پاسخ‌های پیش‌تهایی و تحریک ترشح IgA باشد [۲۹]. این مکانیسم‌ها پیشنهادکننده یک نقش مثبت برای پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از تغییرات نفوذپذیری پاراسلولی و کاهش اختلالات مربوط به بیماری‌های التهابی روده می‌تواند باشد [۳۰].

از نقاط قوت مطالعه حاضر می‌توان به طراحی مطالعه به‌صورت یک مداخله تصادفی دو سوکور کنترل شده با دارونما، حجم بالاتر نمونه نسبت به مطالعات مشابه موجود، استفاده از دو گروه شاهد بیمار و سالم برای مقایسه دقیق‌تر عوامل مورد بررسی، استفاده از یک ماده غذایی به عنوان مداخله که قابل استفاده در برنامه غذایی عادی فرد است و پذیرش افراد شرکت‌کننده را بالا می‌برد و تحویل منظم ماست در فواصل ۱۰ روزه در منازل افراد شرکت‌کننده و پیگیری مستمر افراد در طی این مطالعه اشاره کرد. هم‌چنین این مطالعه دارای محدودیت‌هایی شامل عدم امکان انجام مطالعه در زمان طولانی، عدم امکان در نظر گرفتن طول مدت ابتلا، شدت بیماری، نوع و دوز داروهای مصرفی در معیارهای ورود، عدم تفکیک و مقایسه اثرات مداخله بین انواع بیماری‌های التهابی روده (کولیت زخمی و کرون) و عدم امکان پیگیری بیمارانی پس از اتمام مداخله و بررسی اثرات طولانی مدت استفاده پروبیوتیک‌ها در بیمارانی و به ویژه بر دفعات عود و تسکین در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد.

با توجه به این‌که تغییر سطح نفوذپذیری و التهاب روده، آسیب موکوسی اپتلیال را در جهت ابتلا به کرون پیش برده و عبور باکتری‌ها و ماکرومولکول‌های غذایی را از طریق دیواره مخاطی امکان‌پذیر می‌سازد در نتیجه مطالعات اخیر به دنبال شناسایی مسیرهایی است که نفوذپذیری این سد را کم‌تر کند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد پروبیوتیک درمانی از طریق رژیم خوراکی مانند استفاده از آن در ماست می‌تواند ابزار بالقوه ارزشمندی جهت کاهش سطح نفوذپذیری روده بوده و از آسیب‌های مخاطی پیشگیری کرده یا آن‌ها را ترمیم کند. در نتیجه دست‌کاری نفوذپذیری روده از این طریق یک روش

- double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Korean J Gastroenterol* 2015; 65: 215-222.
<https://doi.org/10.4166/kjg.2015.65.4.215>
 PMid:25896155
- [22] Shen L, Su L, Turner JR. Mechanisms and functional implications of intestinal barrier defects. *Dig Dis* 2009; 27: 443-449.
<https://doi.org/10.1159/000233282>
 PMid:19897958 PMCID:PMC2814011
- [23] Laukoetter MG, Nava P, Nusrat A. Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 401-407.
<https://doi.org/10.3748/wjg.14.401>
 PMid:18200662 PMCID:PMC2679128
- [24] Mankertz J, Schulzke JD. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 379-383.
<https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32816aa392>
 PMid:17545772
- [25] Ng SC, Hart AL, Kamm MA, Stagg AJ, Knight SC. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 300-310.
<https://doi.org/10.1002/ibd.20602>
 PMid:18626975
- [26] Hartstra AV, Nieuwdorp M, Herrema H. Interplay between gut microbiota, its metabolites and human metabolism: Dissecting cause from consequence. *Trends Food Sci Tech* 2016; 57: 233-243.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.009>
- [27] Resta-Lenert S, Barrett KE. Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). *Gut* 2003; 52: 988-997.
<https://doi.org/10.1136/gut.52.7.988>
 PMid:12801956 PMCID:PMC1773702
- [28] Devi SM, Archer AC, Halami PM. Screening, characterization and in vitro evaluation of probiotic properties among lactic acid bacteria through comparative analysis. *Probiotics Antimicrob* 2015; 7: 181-192.
<https://doi.org/10.1007/s12602-015-9195-5>
 PMid:26049925
- [29] Gill HS. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 755-773.
[https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00074-X](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00074-X)
- [30] Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 711-724.
[https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00075-1](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00075-1)
- <https://doi.org/10.1159/000177907>
 PMid:8862696
- [13] Garcia Vilela E, De Lourdes De Abreu Ferrari M, Oswaldo Da Gama Torres H, Guerra Pinto A, Carolina Carneiro Aguirre A, Paiva Martins F, et al. Influence of *Saccharomyces boulardii* on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 842-848.
<https://doi.org/10.1080/00365520801943354>
 PMid:18584523
- [14] Zhang CX, Wang HY, Chen TX. Interactions between intestinal microflora/probiotics and the immune system. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 6764919.
<https://doi.org/10.1155/2019/6764919>
 PMid:31828119 PMCID:PMC6886316
- [15] Hedin C, Whelan K, Lindsay JO. Evidence for the use of probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: a review of clinical trials. *Proc Nutr Soc* 2007; 66: 307-315.
<https://doi.org/10.1017/S0029665107005563>
 PMid:17637082
- [16] Mishima Y, Sartor RB. Manipulating resident microbiota to enhance regulatory immune function to treat inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 2020; 55: 4-14.
<https://doi.org/10.1007/s00535-019-01618-1>
 PMid:31482438 PMCID:PMC6942586
- [17] Haas V, Büning C, Buhner S, von Heymann C, Valentini L, Lochs H. Clinical relevance of measuring colonic permeability. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 139-144.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.02075.x>
 PMid:19200167
- [18] Poritz LS, Garver KI, Green C, Fitzpatrick L, Ruggiero F, Koltun WA. Loss of the tight junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis. *J Surg Res* 2007; 140: 12-19.
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2006.07.050>
 PMid:17418867
- [19] Büning C, Geissler N, Prager M, Sturm A, Baumgart DC, Büttner J, et al. Increased small intestinal permeability in ulcerative colitis: rather genetic than environmental and a risk factor for extensive disease? *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1932-1939.
<https://doi.org/10.1002/ibd.22909>
 PMid:22344959
- [20] Welcker K, Martin A, Kölle P, Siebeck M, Gross M. Increased intestinal permeability in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Med Res* 2004; 9: 456-460.
- [21] Shadnoush M, Shaker Hosseini R, Khalilnezhad A, Navai L, Goudarzi H, Vaezjalali M. Effects of probiotics on Gut microbiota in patients with inflammatory bowel disease: a

Effects of probiotic yogurt consumption on intestinal permeability in inflammatory bowel disease: A double-blind randomized clinical Trial

Mahdi Shadnough (M.D-Ph.D)¹, Maryam Nazari (Ph.D)², Hossein Hajianfar (Ph.D)³, Zeinab Faghfoori (Ph.D)^{*2}

¹ - Department of Clinical Nutrition, School of Nutrition Sciences & Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² - Food Safety research center (Salt), Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

³- Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan University of Medical sciences, Isfahan, Iran

* Corresponding author. +98 23 34544938 Zfaghfoori@gmail.com

Received: 22 Apr 2020; Accepted: 19 Oct 2020

Introduction: Disorders in intestinal permeability have been reported in the pathophysiology of inflammatory bowel diseases (IBD) that may be compensated by complementary therapies through modifying the composition of the intestinal microflora. This study was designed to evaluate the effect of probiotic yogurt on intestinal permeability in patients with IBD.

Materials and Methods: In this double-blind randomized clinical trial, 86 patients in the probiotic yogurt group (intervention patient), 90 patients in the plain yogurt group (control patient) and 84 volunteers in healthy control group receiving 250 g of commercial probiotic/plain yogurt daily for 8 weeks. At the end of the eighth week, a lactulose/mannitol ratio (LMR) test was used to assess intestinal permeability.

Results: The mean age of participants in the study was 37.7 years and the mean body mass index in all subjects was 24.17 ± 2.65 kg/ m². There was no significant difference in the LMR of the intervention group and control patient group at the beginning of the study ($P=0.08$) However, at the end of the period, this ratio decreased significantly in the intervention group compared to the control patient group ($P=0.023$). Importantly, this indicator in the healthy control group in comparison with intervention group was significantly lower at the beginning and at the end of the study.

Conclusion: The results of the present study showed that probiotics consumption via diet such as its use in dairy products such as yogurt can be a good way to improve gastrointestinal damage, including improving the permeability of the intestine and prevent or repair mucosal damage.

Keywords: Inflammatory Bowel Disease, Permeability, Intestines, Probiotic, Yogurt.